

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 23/08/2026.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Trichomonas gallinae* EM
AVES SELVAGENS NO BRASIL

Amanda Garcia Pereira
Médica Veterinária

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Trichomonas gallinae* EM
AVES SELVAGENS NO BRASIL

Amanda Garcia Pereira

Orientadora: Profa. Dra. Karin Werther

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp,
Câmpus de Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Doutora em Medicina Veterinária

P436d

Pereira, Amanda Garcia

Diversidade genética de *Trichomonas gallinae* em aves selvagens
no Brasil / Amanda Garcia Pereira. -- Jaboticabal, 2024

123 p. : tabs., fotos, mapas

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Karin Werther

1. Birds Diseases. 2. Veterinary parasitology. 3. Tricomoníase. 4.
Passeriformes. I. Título.

Impacto potencial desta pesquisa

Duas espécies de tricomonadídeos são descritas em aves: *Trichomonas gallinae*, a qual tem grande importância na clínica de aves selvagens e acomete principalmente o trato digestório superior (orofaringe, esôfago e inglúvio) de diferentes espécies de aves; e *Tetratrichomonas gallinarum*, a qual ocorre no trato digestório inferior. Com o avanço das técnicas moleculares, inúmeros estudos vêm sendo realizados para avaliar a diversidade genética de tricomonadídeos em aves. A falta de estudos moleculares dificulta o entendimento da diversidade de genótipos e de espécies que circulam no país. O ensaio de PCR foi um dos métodos utilizados para identificar a positividade para *T. gallinae* em diferentes ordens de aves, e demonstrou ser a melhor ferramenta, para o diagnóstico e investigação epidemiológica da infecção por *T. gallinae*. A importância do estudo de *Trichomonas* assenta o fato de que a prevalência (total de casos existentes em um dado momento) e incidência (taxa de novos casos em um período específico) desta patologia, estão aumentando em aves silvestres. O presente trabalho contribui para o entendimento da diversidade desse protozoário circulando em aves de diferentes ordens no país. Inclusive aves que fazem migração ressalta-se a importância de conhecer e monitorar esse protozoário em outras aves silvestres, evitando perdas importantes para a fauna brasileira.

Two species of trichomonads have been described in birds: *Trichomonas gallinae*, which is of great importance in the clinical treatment of wild birds and mainly affects the upper digestive tract (oropharynx, esophagus and ingulvium) of different bird species; and *Tetratrichomonas gallinarum*, which occurs in the lower digestive tract. With the advancement of molecular techniques, numerous studies have been carried out to evaluate the genetic diversity of trichomonads in birds. The lack of molecular studies makes it difficult to understand the diversity of genotypes and species that circulate in the country. The PCR assay was one of the methods used to identify positivity for *T. gallinae* in different orders of birds, and it proved to be the best tool for the diagnosis and epidemiological investigation of *T. gallinae* infection. The importance of studying *Trichomonas* is based on the fact that the prevalence (total number of cases at a given time) and incidence (rate of new cases in a specific period) of this pathology are increasing in wild birds. This study contributes to the understanding of the diversity of this protozoan circulating in birds of different orders in the country. Since

many are even migratory birds, it is important to understand and monitor this protozoan in other wild birds, avoiding significant losses to the Brazilian fauna.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Trichomonas gallinae* EM AVES SELVAGENS NO BRASIL

AUTORA: AMANDA GARCIA PEREIRA

ORIENTADORA: KARIN WERTHER

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Medicina Veterinária, área: Patologia Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. KARIN WERTHER (Participação Virtual)
Departamento de Patologia Reprodutiva e Saúde Única / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
gov.br KARIN WERTHER
Data: 26/08/2024 11:15:47-0300
Documento assinado digitalmente
gov.br JOAO BATISTA DE PINHO
Data: 29/08/2024 10:32:40-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. JOÃO BATISTA DE PINHO (Participação Virtual)
Laboratório de Ecologia de Aves - Centro de Biodiversidade / IB Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT) - Cuiabá/MT

Prof. Dr. MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ (Participação Virtual)
Departamento de Patologia Reprodutiva e Saúde Única / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
gov.br MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ
Data: 26/08/2024 11:53:55-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. JOÃO FABIO SOARES (Participação Virtual)
Departamento de Patologia Clínica Veterinária / Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) - Porto Alegre/RS

Documento assinado digitalmente
gov.br JOAO FABIO SOARES
Data: 27/08/2024 17:31:19-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa. Dra. ROSANGELA ZACARIAS MACHADO (Participação Virtual)
Departamento de Patologia Reprodutiva e Saúde Única / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
gov.br ROSANGELA ZACARIAS MACHADO
Data: 28/08/2024 14:56:58-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Jaboticabal, 23 de agosto de 2024

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Amanda Garcia Pereira, nascida em 26 de agosto de 1993, brasileira, natural da cidade de Franca, estado de São Paulo, Médica Veterinária, graduada pela Universidade de Franca - UNIFRAN, Franca, SP, em fevereiro de 2017. Foi bolsista de iniciação científica pela fundação de amparo à pesquisa de São Paulo (FAPESP) (processo número 15/22829-2) e Mestrado em Ciência Animal, com ênfase em oftalmologia pela mesma instituição (2020). Em 2021 tornou-se doutoranda no Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Câmpus de Jaboticabal – UNESP, com bolsa concedida pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior – CAPES. Teve auxílio FAPESP (processo número 2021/05961-5). Participa de eventos nacionais e internacionais de especialidades em Medicina Veterinária, publicando e apresentando trabalhos na área.

DEDICO esta dissertação à minha mãe e minha madrinha, mulheres guerreiras e de fibra que me ensinaram a sorrir e ter fé mesmo nos momentos de dor.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, assim como seus docentes e funcionários, pela estrutura e suporte para que esta pesquisa pudesse ser realizada e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão da bolsa de mestrado (Código Financeiro 001).

Ao suporte financeiro para a pesquisa processo nº 2021/05961-5, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

A Deus pelo dom da vida, por me guiar e proteger.

A minha família, em especial minha mãe, Cíntia Valéria Garcia, e minha madrinha, Ana Paula Garcia, por acreditarem na educação, me dando todo apoio necessário. E por serem os maiores exemplos de vida e pessoas lutadoras, que eu admiro e amo muito.

Aos meus sobrinhos Arthur e Manuela, por toda alegria que me dão, por todo amor incondicional que tenho por vocês.

Agradeço aos membros da banca, por todo o carinho e atenção dedicados à leitura e às considerações feitas neste trabalho.

A professora doutora Karin Werther pela orientação e oportunidades de realizar esse projeto e de crescer na Patologia de Animais Silvestres. As suas críticas construtivas e reflexões foram fundamentais ao longo de todo o percurso.

A todos os funcionários, residentes, professores do departamento de patologia e amigos do doutorado, em especial a Ana Cláudia Calchi, pelos ensinamentos, conselhos, orientações e sobretudo pelo apoio, amizade e incentivo.

SUMÁRIO

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA.....	iii
CERTIFICADO DO SISTEMA DE AUTORIZAÇÃO E INFORMAÇÃO EM BIODIVERSIDADE - SISBIO.....	iii
RESUMO	iii
ABSTRACT	iii
CAPÍTULO 1 - Considerações Gerais.....	16
Introdução	16
Revisão bibliográfica	17
REFERÊNCIAS.....	20
CAPÍTULO 2 – OCORRÊNCIA E DIVERSIDADE GENÉTICA DE <i>Trichomonas gallinae</i> EM AVES SINANTRÓPICAS DE SÃO PAULO	24
INTRODUÇÃO	26
MATERIAL E MÉTODOS	28
Cultivo de <i>Trichomonas</i> spp.....	29
Citologia dos esfregaços de suabes orofaríngeos.....	31
Reação de amplificação para o gene endógeno β <i>actina</i> aviária	31
Ensaio de PCR para <i>Trichomonas</i> spp.....	32
Eletróforese de DNA em gel de agarose	34
Sequenciamento e análise pelo BLASTn	34
Análise filogenética.....	35
Análise de diversidade e rede de genótipos.....	35
RESULTADOS.....	35
Espécies de aves amostradas.....	35
Cultivo de <i>Trichomonas</i> spp.....	38
Citologia dos esfregaços de suabes orofaríngeos.....	39
Extração do DNA e PCR para gene endógeno	40
PCR e análise das sequências das regiões ITS1/5.8S/ITS2 de <i>Trichomonas</i> spp.....	41
PCR e análise das sequências do gene <i>Fe hidrogenase</i> de <i>Trichomonas</i> spp.....	44
PCR e análise das sequências do gene 18S rRNA de <i>Trichomonas</i> spp.	48
Discussão.....	50
CONCLUSÃO.....	55
REFERÊNCIAS.....	56
CAPÍTULO 3 – Detecção e caracterização molecular de <i>Trichomonas</i> spp. em aves selvagens no Pantanal brasileiro	66
RESUMO.....	66
INTRODUÇÃO	68
MATERIAL E MÉTODOS	69

	ii
Área de estudo e aves capturadas	69
ESPÉCIES DE AVES AMOSTRADAS	70
Extração do DNA e PCR para gene endógeno	72
REAÇÃO DE AMPLIFICAÇÃO PARA O GENE ENDÓGENO ACTB (<i>B</i> <i>ACTINA</i>)	72
TRIAGEM PARA <i>Trichomonas</i> spp.	73
CARACTERIZAÇÃO PARA <i>Trichomonas</i> spp.	73
ELETROFORESE DE DNA EM GEL DE AGAROSE	75
SEQUENCIAMENTO E ANÁLISE PELO BLASTN	76
ANÁLISE FILOGENÉTICA	76
ANÁLISE DE DIVERSIDADE E REDE DE GENÓTIPOS	77
RESULTADOS	77
DISCUSSÃO	81
CONCLUSÃO	83
REFERÊNCIAS	84
CAPÍTULO 4 – Considerações Finais	89
APÊNDICES	90
APÊNDICE A – Material suplementar ao capítulo II	90
APÊNDICE B – Material suplementar ao capítulo II	111

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **“Trichomonose em aves selvagens – aspectos etiológicos, moleculares e histopatológicos”**, protocolo nº 732/21, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Karin Werther, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 01 de abril de 2021.

Vigência do Projeto	01/04/2021 a 01/12/2023
Espécie / Linhagem	Aves Selvagens
Nº de animais	Variado
Peso / Idade	Variado
Sexo	Ambos (macho e fêmea)
Origem	Cativeiro (Zoológico, CRAS, CETAS, clínica veterinária)

Jaboticabal, 12 de abril de 2021.


Profa. Dra. Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

CERTIFICADO DO SISTEMA DE AUTORIZAÇÃO E INFORMAÇÃO EM BIODIVERSIDADE - SISBIO



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 77538-1	Data da Emissão: 28/05/2021 14:06:27	Data da Revalidação*: 28/05/2022
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: AMANDA GARCIA PEREIRA	CPF: 424.136.898-00
Título do Projeto: Trichomonose em aves selvagens ? aspectos etiológicos, moleculares e histopatológicos	
Nome da Instituição: UNESP JABOTICABAL	CNPJ: 48.031.918/0012-87

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	coleta de suabe de mucosa gastroenterica	05/2021	07/2023
2	processamento laboratorial	03/2022	09/2022

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Alan Fecchio	ajudar nas coletas	033.149.189-33	Brasileira
2	JOAO BATISTA DE PINHO	ajudar nas coletas	177.363.231-00	Brasileira
3	karin werther	processamento de dados	532.920.309-00	Brasileira

DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Trichomonas gallinae* EM AVES SELVAGENS NO BRASIL

RESUMO - A tricomonose aviária causada pelo protozoário *Trichomonas gallinae* é uma doença que afeta, sobretudo, o trato digestório superior das aves. Os principais hospedeiros naturais deste agente são as aves da ordem Columbiformes, Falconiformes e Strigiformes. As lesões orais, obstruindo os tratos digestórios e respiratórios superiores dificultam a alimentação e respiração e, frequentemente, causam a morte por fome, desidratação e asfixia/apneia. O estudo mais detalhado da tricomonose em aves se justifica visto que a patogenicidade do agente etiológico é variada. O objetivo do estudo foi investigar a ocorrência e diversidade genética de tricomonadídeos em diferentes espécies de aves selvagens no Brasil, a fim de investigar a possível associação entre genótipo do parasito, espécie de ave e presença ou ausência de lesões características da tricomonose aviária. Para tal, foram analisadas amostras biológicas de aves de vida-livre e de cativeiro pertencentes a grupos taxonômicos das ordens Accipitiformes, Anseriformes, Columbiformes, Falconiformes, Gruiformes, Passeriformes, Pisciformes, Psittaciformes, Strigiformes. Foram analisadas amostras de suabes orofaríngeas de aves vivas provenientes de cativeiro (zoológicos, clínicas veterinárias e centros de triagem) e de vida livre, assim como de aves mortas encaminhadas para necropsia. Das aves vivas de cativeiro foram colhidas amostras de suabe da mucosa de orofaringe e de ingluvío destinados para cultura em meio Diamond e para ensaios moleculares para tricomonadídeos a partir de prévia extração de DNA. Das aves vivas capturadas no Pantanal foram colhidas suabes de mucosa orofaringe utilizadas apenas para técnica molecular (PCR). Os ensaios moleculares tiveram como alvos fragmentos da região intergênica ITS1-5.8S-ITS-2, gene *Fe-hidrogenase* e 18S rRNA. As sequências obtidas foram submetidas a análises filogenéticas e de diversidade genotípica. Em conclusão, ITS-1/5.8S/ITS-2 parece ser um marcador importante para triagem molecular para *Trichomonas gallinae* e o *Fe hidrogenase* se mostrou melhor para diferenciar os genótipos. O ensaio de PCR foi um dos métodos utilizados para identificar as amostras positivas em diferentes ordens de aves, e demonstrou ser a melhor ferramenta, para o diagnóstico e investigação epidemiológica da infecção por *T. gallinae*. Conclui-se que a ordem Columbiformes é afetada pelo agente e que, de acordo com a literatura existente, é o principal reservatório do parasito em várias cidades do estado de São Paulo.

Palavras-chaves: Aves silvestres; Parasitos; Protozoários; Diversidade genética.

GENETIC DIVERSITY OF *TRICHOMONAS GALLINAE* IN WILD BIRDS IN BRAZIL

ABSTRACT - Avian trichomonosis caused by the protozoan *Trichomonas gallinae* is a disease that mainly affects the upper digestive tract of birds. The main natural hosts of this agent are birds of the orders Columbiformes, Falconiformes and Strigiformes. Oral lesions, obstructing the digestive and upper respiratory tracts, make feeding and breathing difficult and often cause death by starvation, dehydration and asphyxia/apnea. A more detailed study of trichomonosis in birds is justified since the pathogenicity of the etiological agent is varied. The objective of the study was to investigate the occurrence and genetic diversity of trichomonads in different species of wild birds in Brazil, in order to investigate the possible association between the genotype of the parasite, bird species and the presence or absence of lesions characteristic of avian trichomonosis. Biological samples from free-ranging and captive birds belonging to taxonomic groups of the orders Accipritiformes, Anseriformes, Columbiformes, Falconiformes, Gruiformes, Passeriformes, Pisciformes, Psittaciformes, and Strigiformes were analyzed. Oropharyngeal swabs were collected from live birds from captivity (zoos, veterinary clinics, and screening centers) and from free-ranging birds, as well as from dead birds sent for necropsy. Swab samples from the oropharyngeal mucosa and the ingulvium were collected from live captive birds for culture in Diamond medium and for molecular assays for trichomonads based on prior DNA extraction. Oropharyngeal mucosa swabs were collected from live birds captured in the Pantanal and used only for molecular techniques (PCR). The molecular assays targeted fragments of the ITS1-5.8S-ITS-2 intergenic region, *Fe-hydrogenase* gene and 18S rRNA. The sequences obtained were subjected to phylogenetic and genotypic diversity analyses. In conclusion, ITS-1/5.8S/ITS-2 appears to be an important marker for molecular screening for *Trichomonas gallinae* and *Fe hydrogenase* proved to be the best marker for differentiating genotypes. The PCR assay was one of the methods used to identify positive samples in different orders of birds, and proved to be the best tool for the diagnosis and epidemiological investigation of *T. gallinae* infection. It is concluded that the order Columbiformes is affected by the agent and that, according to the existing literature, it is the main reservoir of the parasite in several cities of the state of São Paulo.

Keywords: Wild birds; Parasites; Protozoa; Genetical diversity.

LISTA DE ABREVIações

%	Porcentagem
µL	Microlitro
µm	Micrometro
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nivel Superior
DNA	Ácido Desoxirribonucleico, do inglês “Deoxyribonucleic acid”
g/L	Grama por litro
mg	Miligramas
mg/L	Miligramas por litro
MT	Mato Grosso
PCR Reaction”	Reação em Cadeia da Polimerase, do inglês “Polymerase Chain
RNA	Ácido Ríbonucleico, do inglês “Ribonucleic acid”
SP	São Paulo
<i>T. gallinae</i>	<i>Trichomonas gallinae</i>

CAPÍTULO 1 - Considerações Gerais

Introdução

Trichomonadídeos são protozoários flagelados pertencentes à família Trichomonadidae e ordem Trichomonadida. Possuem forma de pêra ou redonda, com cerca de 10 a 12,5µm de comprimento, um axóstilo, quatro flagelos anteriores ou livres e uma membrana ondulatória que se prolonga num flagelo posterior, que permite a locomoção dos protozoários. A reprodução destes parasitos é assexuada e acontece por fissão binária. São responsáveis por causarem tricomonoses, afecções no trato gastrointestinal ou urogenital, em humanos e animais de várias espécies (BRUGEROLLE & MÜLLER, 2000; AMIN et al., 2014).

A Tricomonose é também conhecida como “Canker” ou “Roup” em Columbiformes, Psitaciformes e outras aves, e “Frounce” em aves de rapina (RUPLEY, 1997).

Trichomonas gallinae é um organismo eucariota, pertencente ao Reino Protista, Filo Protozoa, Sub-filo Sarcomastigophora, Classe Mastigophora, Ordem Trichomonadida, Família Trichomonadidae e Gênero *Trichomonas* (URQUHART et al., 1996; GASPAR DA SILVA et al., 2007). Possui distribuição mundial e já foi descrito infectando aves das ordens Accipitriformes, Anseriformes, Columbiformes, Falconiformes, Galliformes, Gruiformes, Passeriformes, Psittaciformes, Strigiformes (GÓMEZ-MUÑOZ et al., 2022), e Ratitas (MASSI et al., 1995). Os hospedeiros naturais de *T. gallinae* são as aves, sendo o pombo comum (*Columba livia*) o principal hospedeiro do protozoário (STABLER, 1954), embora outras espécies de columbiformes também são frequentemente infectadas. *Trichomonas gallinae* pode afetar uma ampla gama de famílias de aves, como os rapinantes (diurnos e noturnos) especialmente aquelas espécies que se alimentam de pombos ou mesmo de carcaças de outras aves contaminadas (KRONE et al., 2005). A infecção em aves geralmente ocorre por via oral, sendo que a forma mais frequente de transmissão é principalmente pelo contato direto, no qual o parasito é transmitido entre adultos por ocasião da

corte e acasalamento e entre adultos e filhotes durante a alimentação. Além disso a ingestão de água e alimentos contaminados também foi identificado como uma importante via de transmissão (KOCAN, 1970; ANDERSON et al., 2009; McBURNEY et al., 2015).

CONCLUSÃO

Este estudo forneceu uma visão abrangente sobre a ocorrência e a diversidade genética de *T. gallinae* em aves silvestres do Pantanal brasileiro, destacando a ampla distribuição do parasita entre diferentes ordens de aves. A alta ocorrência em Columbiformes, Passeriformes e Cuculiformes reforça o papel ecológico dessas aves como potenciais hospedeiras e disseminadoras do parasita, com ênfase em espécies urbanas que podem atuar como vetores significativos em ambientes antropizados. A análise genotípica revelou uma notável diversidade de *T. gallinae*, incluindo genótipos compartilhados entre diferentes espécies de

aves e regiões geográficas, sugerindo um mecanismo comum de transmissão mediado pelo consumo compartilhado de frutos e sementes. Embora nenhuma ave tenha exibido sinais clínicos da doença, a identificação molecular do parasita em diferentes espécies destaca a necessidade de monitoramento contínuo, particularmente em áreas onde aves domésticas e silvestres interagem.

REFERÊNCIAS

- Albeshr MF, Alrefaei AF. Isolation and characterization of novel *Trichomonas gallinae* ribotypes infecting Domestic and Wild birds in Riyadh, Saudi Arabia. *Avian diseases*. 2020; 64 (2); 130-134. <https://doi.org/10.1637/0005-2086-64.2.130>
- Alrefaei AF, Low R, Hall N, Jardim R, Dávila A, Gerhold R, Tyler K. Multilocus analysis resolves the European finch epidemic strain of *Trichomonas gallinae* and suggests introgression from divergent trichomonads. *Genome biology and evolution*. 2019; 11 (8); 2391-2402. <https://doi.org/10.1093/gbe/evz164>
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology*, 1990; 215(3): 403-410. [https://dx.doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://dx.doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Amin A, Bilic I, Liebhart, D, Hess M. Trichomonads in birds—a review. *Parasitology*, 2014; 141(6): 733-747. <https://dx.doi.org/10.1017/S0031182013002096>
- Bandelt HJ, Forster P, Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular biology and evolution* 1999; 16(1); 37-48. <https://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>

Bulbul KH, Shahardar R. Allaie IM. Wani ZA. Tramboo SR. Ashraf, A.; Shubeena, S. Avian trichomonosis with special reference to pigeon. *Int J Vet Sci Anim Husb* 2018; 3; 11-13. <http://dx.doi.org/10.17582/journal.aavs/2023/11.10.1690.1696>

Brunthaler R, Teufelbauer N, Seaman B, Nedorost N, Bittermann K, Matt J, Weissenböck H. Trichomonosis in Austrian Songbirds—Geographic distribution, pathological lesions and genetic characterization over nine years. *Animals*. 2022; 12 (10); 1306. <https://doi.org/10.3390/ani12101306>

Chi JF, Lawson, B, Durrant C, Beckmann K, Alrefaei AF, Kirkbride K, Bell DJ. Cunningham, A. A.; Tyler, K. M. The finch epidemic strain of *Trichomonas gallinae* is predominant in British non-passerines. *Parasitology*. 140: 1234–1245. 2013. <https://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.11.003>

Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. jModelTest 2: more models, new heuristics and high-performance computing. *Nature methods*, v. 9, n. 8, p. 772, 2012. <https://dx.doi.org/10.1038/nmeth.2109>

Da Silva DG, Barton E, Bunbury N, Lunness P, Bell DJ, Tyler KM. Molecular identity and heterogeneity of trichomonad parasites in a closed avian population. *Infection, Genetics and Evolution*, 2007: 7(4); 433-440. <https://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2007.01.002>

Ecco R, Preis IS, Vilela DA, Luppi MM, Malta MC, Beckstead RB, Stimmelmayer R. Gerhold RW. Molecular confirmation of *Trichomonas gallinae* and other parabasalids from Brazil using the 5,8S and ITS-1 rRNA regions. *Vet. Parasitol*. 2012; 190(1/2):36-42. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.05.029>

Ewing B, Green P. Base-calling of automated sequencer traces using phred. II. Error probabilities. *Genome research*, 1998: 8(3); 186-194. <https://dx.doi.org/10.1101/gr.8.3.186>

Fadhil LT, Faraj AA. Survey of *Trichomonas gallinae* isolates in pigeons by microscopy and PCR. *Veterinary Research*, 2019: 23 (4): 321-329.

Forrester DJ, Foster DW. Trichomonosis. In C.T. Atkinson, N.J. Thomas, & D.B. Hunter (Eds.). *Parasitic Diseases of Wild Birds*. p.120–153. Ames: Wiley-Blackwell. 2008.

Forzán MJ, VandersticheL R, Melekhovets YF, Mcburney S. Trichomoniasis in finches from the Canadian Maritime provinces--An emerging disease. *Can Vet J*, 2010: 51(4); 391. PMC2839828

Ganas P, Jaskulska B, Lawson B, Zadavec M, Hess M Bilic, I. Multi-locus sequence typing confirms the clonality of *Trichomonas gallinae* isolates circulating in European finches. *Parasitology*, 2014: 141(5); 652-661. <https://dx.doi.org/10.1017/S0031182013002023>

Gerhold RW, Maestas LP, Harnage PM. Persistence of two *Trichomonas gallinae* isolates in chlorinated and distilled water with or without organic material. *Avian Diseases*. 2013; 57 (3); 681-683. <https://doi.org/10.1637/10518-022213-ResNote.1>

Glez-Peña D, Reboiro-Jato M, Maia P, Rocha M, Díaz F, Fdez-Riverola F. AlBench: a rapid application development framework for translational research in biomedicine. *Computer methods and programs in biomedicine*, 2010: 98(2); 191-203. <https://dx.doi.org/10.1016/j.cmpb.2009.12.003>

Gordo FP, Herrera S, Castro AT, Durán BG, Diaz RM. Parasites from farmed ostriches (*Struthio camelus*) and rheas (*Rhea americana*) in Europe. *Veterinary parasitology*, 2002: 107(1-2); 137-160. [https://dx.doi.org/10.1016/s0304-4017\(02\)00104-8](https://dx.doi.org/10.1016/s0304-4017(02)00104-8)

Grunenwald C, Sidor I, Mickley R, Dwyer C, Gerhold R. *Tetratrichomonas* and *trichomonas* spp.-associated disease in free-ranging common Eiders (*Somateria mollissima*) from Wellfleet Bay, MA and description of ITS1 region genotypes. *Avian diseases*, 2018: 62(1); 117-123. <https://dx.doi.org/10.1637/11742-080817-Reg.1>

Gupta SD, Islam M, Kamal T, Faruque MRAL, Faruk MS. The confirmatory diagnosis and therapeutic management of canker in pigeons. Res J. Vet. Pract, 2023;11(2); 20-25. <http://dx.doi.org/10.17582/journal.rjvp/2023/11.2.20.25>

Kocan RM, Herman CM. Trichomoniasis. In Infectious and Parasitic Diseases of Wild Birds (ed. Davis, J.W., Anderson, R. C., Karstad, L. and Trainer, D. O.), 1971: 282–290. Iowa State University Press, Ames, IA, USA.

Lawson B, Cunningham AA, Chantrey J, Hughes LA, John SK, Bunbury N, Tyler KM. A clonal strain of *Trichomonas gallinae* is the aetiologic agent of an emerging avian epidemic disease. Infection, Genetics and Evolution, 2011: 11(7); 1638-1645. <https://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2011.06.007>

Leigh JW, Bryant D. Popart: full-feature software for haplotype network construction. Methods in ecology and evolution, 2015: 6(9); 1110-1116. <https://dx.doi.org/10.1111/2041-210X.12410>

Martins M, Aquino EA, Albuquerque LB. Guildas tróficas da avifauna na Lagoa Itatiaia, Campo Grande, MS. Multitemas, 2007. <https://dx.doi.org/10.20435/multi.v0i35.853>

Mcburney S, Kelly-Clark WK, Forzan MJ, Lawson B, Tyler KM, Greenwood SJ. Molecular characterization of *Trichomonas gallinae* isolates recovered from the Canadian Maritime provinces' wild avifauna reveals the presence of the genotype responsible for the European finch trichomonosis epidemic and additional strains. Parasitology, 2015: 142(8); 1053-1062. <https://dx.doi.org/10.1017/S0031182015000281>

Mckeen T, Dunsmore J, Raidal SR. *Trichomonas gallinae* in budgerigars and columbid birds in Perth, Western Australia. Australian Veterinary Journal. 1997; 75 (9); 652-655. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1997.tb15363.x>

Mirzaei M, Ghashghaei O, Khedri J. First report of an outbreak trichomoniasis in turkey in Sistan, Iran. *Journal of Parasitic Diseases*, 2016: 40; 61-64.
<https://dx.doi.org/10.1007/s12639-014-0445-3>

Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T. The CIPRES science gateway: a community resource for phylogenetic analyses. In: *Proceedings of the 2011 TeraGrid Conference: extreme digital discovery*. 2011. 1-8.
<https://dx.doi.org/10.1145/2016741.2016785>

Neimanis AS, Handeland K, Isomursu M, Ågren E, Mattsson R, Hamnes IS, Hirvelä-Koski V. First report of epizootic trichomoniasis in wild finches (family Fringillidae) in southern Fennoscandia. *Avian diseases*, 2010: 54(1); 136-141.
<https://dx.doi.org/10.1637/8952-060509-Case.1>

Reisen WK, Chiles RE, Green EN, Fang Y, Mahmood F, Martinez VM, Laver T. Effects of immunosuppression on encephalitis virus infection in the house finch, *Carpodacus mexicanus*. *Journal of medical entomology*. 2003: 40 (2); 206-214.
<https://dx.doi.org/10.1603/0022-2585-40.2.206>

Ronquist F, Huelsenbeck JP. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 2003: 19(12); 1572-1574.
<https://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>

Schulz JH, Bermudez AJ, Millspaugh JJ. Monitoring presence and annual variation of trichomoniasis in mourning doves. *Avian Diseases*, 2005: 49(3); 387-389. <https://dx.doi.org/10.1637/7333-012505R.1>

Stover BC, Muller KF. TreeGraph 2: combining and visualizing evidence from different phylogenetic analyses. *BMC bioinformatics*, 2010: 11; 7-7.
<https://dx.doi.org/10.1186/1471-2105-11-7>

Timm CD, Timm VF. *Avifauna gaúcha: guia de identificação*. Pelotas, USEB, 2021.

Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic acids research*, 1994; 22(22): 4673-4680. <https://dx.doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>

Villanúa, D., Hofle, U., Perez-Rodriguez, L., & Cortazar, C. *Trichomonas gallinae* in wintering common wood pigeons *Columba palumbus* in Spain. *Avian Pathology*, 2006; 45: 641-648. doi: 10.1111/j.1474-919X.2006.00561.x.

CAPÍTULO 4 – Considerações Finais

Os resultados obtidos fornecem evidências de que o monitoramento da ocorrência deste protozoário deve continuar, pois sabe-se que pode facilmente causar uma possível epidemia, levando a perdas para a natureza de diversas ordens de aves. Os zoológicos, centro de reabilitação e centros de pesquisa de animais, devem avaliar a liberação de animais que sobrevivem à infecção por *Trichomonas* sp., uma vez que, estes indivíduos podem ser assintomáticos durante anos, podendo contribuir, desta forma, para a dispersão do parasito.